

Kent Academic Repository

Full text document (pdf)

Citation for published version

Romanov, Michael N., Kiazim, Lucas, O'Connor, Rebecca and Griffin, Darren K. (2020) [Current molecular genetic and genomic technologies in the field of studying the avian biology. 2. Basic research] - . 2. . In:
Materials of the 2nd International Scientific and Practical Conference / 2- -

DOI

<https://doi.org/10.18720/SPBPU%2F2%2Fk20-5>

Link to record in KAR

<https://kar.kent.ac.uk/89220/>

Document Version

Publisher pdf

Copyright & reuse

Content in the Kent Academic Repository is made available for research purposes. Unless otherwise stated all content is protected by copyright and in the absence of an open licence (eg Creative Commons), permissions for further reuse of content should be sought from the publisher, author or other copyright holder.

Versions of research

The version in the Kent Academic Repository may differ from the final published version.

Users are advised to check <http://kar.kent.ac.uk> for the status of the paper. **Users should always cite the published version of record.**

Enquiries

For any further enquiries regarding the licence status of this document, please contact:

researchsupport@kent.ac.uk

If you believe this document infringes copyright then please contact the KAR admin team with the take-down information provided at <http://kar.kent.ac.uk/contact.html>

**СОВРЕМЕННЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
И ГЕНОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ
В ОБЛАСТИ ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИИ ПТИЦ.
2. ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Романов М.Н.,^{1, 2} Кязим Л.,²
О'Коннор Р.,² Гриффин Д.К.²**

¹ ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия;

² Университет Кента, Кентербери, Великобритания.
E-mail: m.romanov@kent.ac.uk

Аннотация

На примере анализа цитогенетических карт и хромосомных перестроек восьми видов птиц показана возможность успешного применения современных геномных методов и технологий для выявления общих и специфических особенностей геномной организации и углубленного понимания фундаментальных закономерностей эволюции птичьих геномов. Предложена интерпретация наблюдаемой геномной вариативности и специфических хромосомных перестроек, которая согласуется с имеющейся информацией об общей организации и изменчивости геномов тех или иных видов и систематических групп птиц.

Ключевые слова: геномные технологии, хромосомные перестройки, геномы птиц, эволюция геномов

Введение

Генерирование первой доступной геномной последовательности птиц для домашней курицы (International Chicken Genome Sequencing Consortium, 2004) послужило

отправной точкой для последующего получения геномных карт индейки и зебровой амадины (Romanov, Dodgson, 2005, 2006) и последовательностей их геномов. В дальнейшем были секвенированы еще 48 птичьих геномов (Zhang et al., 2014), что, наряду с прогрессом в современных высокопроизводительных молекулярно-генетических и геномных методах и технологиях, позволило сделать значительный рывок в области широкомасштабных фундаментальных исследований, проводимых на птицах. Так, были получены новые, углубленные сведения о макроэволюции и филогенетике класса птиц (Zhang et al., 2014; Jarvis et al., 2014; Romanov et al., 2014b).

Неослабевающий интерес в сфере фундаментальных исследований птиц сохраняется и включает такие направления, как изучение общих и частных аспектов устройства птичьего генома, его функционирования и эволюции (Damas et al., 2014). В частности, одним из ключевых моментов научной работы в этой области является выяснение хромосомных перестроек, как внутривхромосомных, так и межхромосомных, что позволяет представить конкретные пути эволюционирования геномов птиц (Romanov et al., 2014a, b). Основной задачей данного исследования было проведение поиска и анализа эволюционных изменений (хромосомных перестроек) в макрохромосомах на примере нескольких видов птиц, геном которых наиболее изучен к настоящему времени.

Материалы и методы

С целью изучения характера хромосомных перестроек в макрохромосомах птиц были отобраны восемь видов, представляющих шесть из 32 отрядов новонебных птиц (неогнат): черный дрозд (*Turdus merula*) и атлантическая канарейка (*Serinus canaria*), оба представителя отряда воробьинообразных; евразийский вальдшнеп (*Scolopax*

rusticola; отряд ржанкообразных); курица (*Gallus gallus*) и песарка (*Numida meleagris*), оба представители отряда курообразных; пустынная дрофа (*Chlamydotis undulata*; отряд дрофообразных); сизый голубь (*Columba livia*; отряд голубеобразных) и домашняя утка (*Anas platyrhynchos*; отряд гусеобразных) (Kiazim et al., неопубл. дан.). Положение восьми видов на филогенетическом дереве птиц (Prum et al., 2015) условно представлено на рис. 1, построенном с помощью программы ETE Toolkit (Huerta-Cepas et al., 2016).

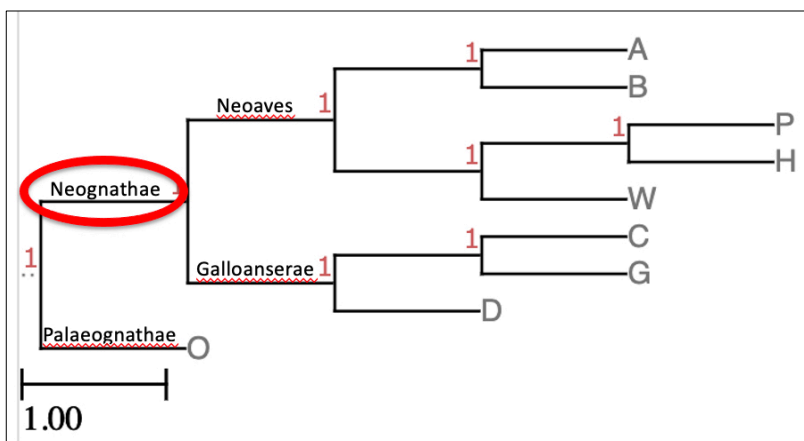


Рис. 1. Филогенетическое дерево для восьми представителей новонебных птиц: канарейки (А), дрозда (В), голубя (Р), дрофы (Н), вальдшнепа (W), курицы (С), цесарки (G) и утки (D). Гипотетический предок новонебных птиц (Neognathae) обведен красным овалом. В качестве аутгруппы использован страус (O), представитель бескилевых птиц (Paleognathae)

Для скрининга хромосом восьми видов методом межвидовой флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) был использован универсальный птичий гибридизирующий набор зондов, в качестве которых использовались куриные

БАК-клоны (Damas et al., 2017; O'Connor et al., 2018). С помощью этого набора предполагалось проследить эволюцию макрохромосом посредством создания сравнительных цитогенетических карт. Этот подход позволяет идентифицировать такие перестройки хромосом, как разрывы, слияния, дупликации и инверсии, все из которых вносят вклад в хромосомные изменения, влияющие на видообразование и филогенетические отношения между видами. На основе полученных сравнительных цитогенетических карт (Kiazim et al., неопубл. дан.) была проведена реконструкция генома гипотетического предка новонебных птиц посредством программы MLGO (Hu et al., 2014). Анализ наблюдаемых хромосомных перестроек у восьми видов относительно предкового генома проводили визуально и с использованием программы GRIMM (Tesler, 2002).

Результаты и обсуждение

Обобщенная информация о хромосомных перестройках, выявленных для восьми изученных видов птиц, представлена в табл. 1. Наименьшее количество всех перестроек было характерно для курицы (4) и цесарки (6), представителей отряда курообразных — более ранней систематической группы в эволюции птиц. Наибольшее количество всех хромосомных перестроек (16) обнаружено у вальдшнепа.

Для дальнейшего анализа хромосомных перестроек были выбраны пять признаков (факторов), имеющих индивидуальные значения для каждого из восьми сравниваемых видов птиц: R_1 — степень успешности межвидовой FISH-гибридизации, R_2 — общее количество всех перестроек, R_3 — число всех внутривидовых перестроек, R_4 — число всех межхромосомных перестроек и R_5 — отношение двойного набора хромосом вида к типичному птичьему кариотипу, принятому за 80 хромосом ($2n/80$).

Таблица 1

**Внутрихромосомные (в/х) и межхромосомные (м/х)
перестройки в геномах восьми видов птиц**

Вид	Кариотип 2n)	R1, %	Инверсии	Дуплика- ции	Транс- лока- ции		Слияния	Разрывы	Всего пере- строек		
					в/х	м/ х			в/х	м/х	все х
Курица	78	100	3	–	–	–	1	–	3	1	4
Цесар- ка	78	100	4	–	–	–	2	–	4	2	6
Утка	80	85,1	8	–	–	–	–	–	8	0	8
Голубь	80	93,2	11	–	–	–	–	–	11	0	11
Дрофа	78	87,8	9	–	–	–	–	–	9	0	9
Дрозд	80	78,4	9	–	–	–	–	1	9	1	10
Кана- рейка	80	73,0	4	2	2	2	–	1	8	3	11
Вальд- шнеп	96	73,0	8	–	–	3	–	5	8	8	16

R_1 — степень успешности межвидовой FISH-гибридизации с помощью куриных зондов.

Как видно из табл. 1, каждый из этих пяти факторов имеет свою специфическую изменчивость и характер (величину и разброс) значений. Например, фактор R_4 для утки, голубя и дрофы равен 0, поскольку у этих видов не были найдены межхромосомные перестройки; если взять двойной набор хромосом (2n), используемый при вычислении показателя R_5 , то здесь мы имеем, как правило, лишь два имеющихся значения (78 и 80), и только вальдшнеп (96) выбивается из этого ряда, и т.п. в случае других факторов. Другими словами, интегрально обобщить такие раз-

нокачественные факторы в какой-либо один показатель довольно затруднительно. Поэтому в качестве решения этой проблемы было предложено сделать преобразование этих очень разнокачественных данных для пяти факторов посредством их ранжирования. Например, вместо имеющихся значений числа всех межхромосомных перестроек, которые используются в качестве R_4 ,

1
2
0
0
0
1
3
8

можно присвоить соответствующие ранги для каждого значения (в порядке возрастания исходных величин от 0 до 8):

2
3
1
1
1
2
4
5

Аналогичные преобразования (ранжирования) были выполнены для остальных четырех факторов. Затем преобразованные значения для пяти факторов были перемножены между собой для каждого вида, что дало новый интегральный показатель (R_5).

Далее был построен график для восьми видов, где по оси y отложено общее количество всех перестроек (R_2), а по оси x — интегральный показатель R_5 (рис. 2). Для полученных на графике рис. 2 восьми точек затем была вы-

брана степенная функция, которая дала весьма высокую корреляцию ($R=0,9321$) и которую можно интерпретировать как адекватную зависимость для отражения вариативности восьми геномов птиц относительно друг друга и в эволюционном плане в целом.

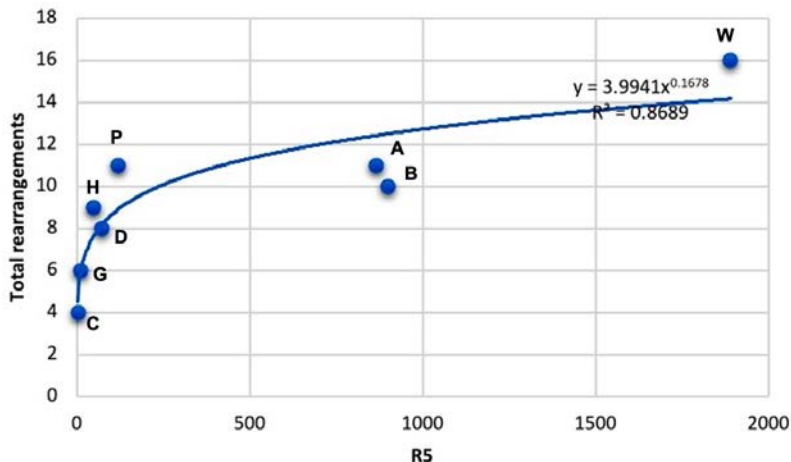


Рис. 2. Графическая зависимость интегрального показателя геномной вариативности и специфических хромосомных перестроек ($R5$; ось x) от общего количества всех перестроек (ось y) для восьми представителей новонебных птиц (Neognathae): курицы (C), цесарки (G), утки (D), дрофы (H), голубя (P), канарейки (A), дрозда (B) и вальдшнепа (W)

Интересно, что на графике рис. 2 мы имеем близкое расположение друг к другу курицы и цесарки (C, G), принадлежащих к отряду курообразных, и канарейки и дрозда (A, B) из отряда воробьинообразных, при очень удаленном местоположении вальдшнепа (W; отряд ржанкообразных), что хорошо согласуется с филогенией, принятой нами для данных восьми видов (рис. 1). Голубь (P), в принципе, тоже занимает весьма обособленное положение, и рядом с ним располагается дрофа (H; рис. 2), что также вписывается

ся в принятую филогению (рис. 1). В то же время утка (D) более приближена к этим двум видам, удаляясь от курицы и цесарки (рис. 2), с которыми утка таксономически образует общую кладу — надотряд Galloanserae (рис. 1). Наблюдаемые некоторые расхождения в распределении восьми видов на графике рис. 2 с общепринятыми филогенетическими концепциями для птиц могут быть объяснимы, поскольку в настоящей работе применялся FISH-метод, от которого довольно трудно ожидать очень высокой точности. Тем не менее даже с помощью этого метода мы смогли увидеть некоторые общие закономерности, характерные для принятой таксономии (филогении) и эволюции геномов данных видов.

Предлагаемая интерпретация геномной вариативности и специфических хромосомных перестроек (рис. 2) согласуется также с накопленными к настоящему времени сведениями об общей организации и изменчивости геномов тех или иных видов и систематических групп птиц (Zhang et al., 2014; Romanov et al., 2014a, b). Так, геном курицы, занимающей на графике рис. 2 наиболее низкую позицию (с минимальными показателями вариативности и перестроек), рассматривается как наиболее близкий к предковому геному птиц (Romanov et al., 2014b), в то время как геномы воробьинообразных, как самого разнообразного и в эволюционном плане более недавнего отряда птиц, обнаруживают очень высокую скорость эволюционирования (Zhang et al., 2014; Jarvis et al., 2014). По-видимому, геном вальдшнепа из отряда ржанкообразных характеризуется очень высокой степенью хромосомных изменений, что выражается как в повышенном диплоидном наборе хромосом, так и в большом числе хромосомных перестроек, как это продемонстрировано в настоящем исследовании на примере генома вальдшнепа и не обнаружено нами в имеющихся литературных источниках.

Список литературы

Damas J, Farré M, Lithgow P, Romanov M, Li C, Griffin DK, Larkin DM. Towards the construction of avian chromosome assemblies. 20th International Chromosome Conference (Canterbury), 2014, p. 69, Abstract O21.

Damas J, O'Connor R, Farré M, Lenis VPE, Martell HJ, Mandawala A, Fowler K, Joseph S, Swain MT, Griffin DK, Larkin DM. Upgrading short-read animal genome assemblies to chromosome level using comparative genomics and a universal probe set. *Genome Res.* 2017; 27(5):875–884.

Hu F, Lin Y, Tang J. MLGO: phylogeny reconstruction and ancestral inference from gene-order data. *BMC Bioinformatics.* 2014; 15(1):354.

Huerta-Cepas J, Serra F, Bork P. ETE 3: reconstruction, analysis, and visualization of phylogenomic data. *Mol Biol Evol.* 2016; 33(6):1635–1638.

International Chicken Genome Sequencing Consortium. Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature.* 2004; 432:695–716.

Jarvis ED, Mirarab S, Aberer AJ, Li B, Houde P, Li C, Ho SY, Faircloth BC, Nabholz B, Howard JT, Suh A, Weber CC, da Fonseca RR, Li J, Zhang F, Li H, Zhou L, Narula N, Liu L, Ganapathy G, Boussau B, Bayzid MS, Zavidovych V, Subramanian S, Gabaldón T, Capella-Gutiérrez S, Huerta-Cepas J, Rekepalli B, Munch K et al. Whole-genome analyses resolve early branches in the tree of life of modern birds. *Science.* 2014; 346(6215):1320–1331.

O'Connor RE, Farré M, Joseph S, Damas J, Kiazim L, Jennings R, Bennett S, Slack EA, Allanson E, Larkin DM, Griffin DK. Chromosome-level assembly reveals extensive rearrangement in saker falcon and budgerigar, but not ostrich, genomes. *Genome Biol.* 2018; 19(1):171.

Prum RO, Berv JS, Dornburg A, Field DJ, Townsend JP, Lemmon EM, Lemmon AR. A comprehensive phylogeny of birds (Aves) using targeted next-generation DNA sequencing. *Nature.* 2015; 526(7574):569–573.

Romanov MN, Dodgson JB. Development of a physical and comparative map of the turkey genome. International Plant and Animal Genome XIII Conference (San Diego, CA), 2005, p. 69, Abstract W297.

Romanov MN, Dodgson JB. Cross-species overgo hybridization and comparative physical mapping within avian genomes. *Anim Genet.* 2006; 37(4):397–399.

Romanov MN, Farré-Belmonte M, Lithgow PE, O'Connor B, Fowler KE, Larkin DM, Griffin DK. *In silico* reconstruction of chromosomal rearrangements and an avian ancestral karyotype. International Plant and Animal Genome XXII Conference (San Diego, CA), 2014a, Abstract P1106 (San Diego, CA, USA).

Romanov MN, Farré M, Lithgow PE, Fowler KE, Skinner BM, O'Connor R, Fonseka G, Backström N, Matsuda Y, Nishida C, Houde P, Jarvis ED, Ellegren H, Burt DW, Larkin DM, Griffin DK. Reconstruction of gross avian genome structure, organization and evolution suggests that the chicken lineage most closely resembles the dinosaur avian ancestor. *BMC Genomics.* 2014b; 15(1):1060.

Tesler G. GRIMM: genome rearrangements web server. *Bioinformatics.* 2002; 18(3):492–493.

Zhang G, Li C, Li Q, Li B, Larkin DM, Lee C, Storz JF, Antunes A, Greenwold MJ, Meredith RW, Ödeen A, Cui J, Zhou Q, Xu L, Pan H, Wang Z, Jin L, Zhang P, Hu H, Yang W, Hu J, Xiao J, Yang Z, Liu Y, Xie Q, Yu H, Lian J, Wen P, Zhang F, Li H, Zeng Y, Xiong Z, Liu S, Zhou L, Huang Z, An N, Wang J, Zheng Q, Xiong Y, Wang G, Wang B, Wang J, Fan Y, da Fonseca RR, Alfaro-Núñez A, Schubert M, Orlando L, Mourier T, Howard JT, Ganapathy G, Pfenning A, Whitney O, Rivas MV, Hara E, Smith J, Farré M, Narayan J, Slavov G, Romanov MN et al. Comparative genomics reveals insights into avian genome evolution and adaptation. *Science.* 2014; 346(6215):1311–1320.

Current molecular genetic and genomic technologies in the field of studying the avian biology.

2. Basic research

Romanov M.N.,^{1,2} Kiazim L.,² O'Connor R.,² Griffin D.K.²

¹ K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary
Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia;
² University of Kent, Canterbury, UK.

Abstract

By the example of the analysis of cytogenetic maps and chromosome rearrangements of eight bird species, the feasibility of successful application of current genomic methods and technologies for identifying general and specific features of genome organization and in-depth understanding of the fundamental laws of evolution of avian genomes has been shown. An interpretation of the observed genomic “variadicity” and specific chromosome rearrangements has been proposed, which is consistent with the available information on the general organization and variability of the genomes of certain avian species and systematic groups.

Key words: genomic technologies, chromosome rearrangements, avian genomes, genome evolution